

УДК 576.895.421 : 591.557.83

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИСТОНАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МЕСТЕ ПРИКРЕПЛЕНИЯ К ТЕЛУ ХОЗЯИНА ЛИЧИНОК ИКСОДОВОГО КЛЕЩА НАЕМАРФИСАЛИС LONGICORNIS

© Л. И. Амосова

Статья является продолжением электронно-микроскопических исследований механизма прикрепления и ответной реакции хозяев (белых мышей) во время многодневного питания личинок разных видов иксодовых клещей, различающихся по глубине проникновения ротового аппарата в ткани хозяина и строению цементного футляра. В работе изучены ультраструктурные особенности строения цементного футляра личинок *Haemaphysalis longicornis* на разных этапах кровососания (2 ч, 1–3 сут после прикрепления) и его взаимодействие с окружающими тканями хозяина. Проведено сопоставление этих данных с результатами, полученными автором ранее на личинках других иксодид, питавшихся на том же хозяине (Амосова, 1989а, 1989б, 1994).

Haemaphysalis longicornis принадлежит к так называемым короткохоботковым клещам из подсем. Amblyommini, для которых, как принято считать (Кемп е. а., 1982), характерно относительно неглубокое проникновение ротовых частей в ткани хозяина в период многодневного питания. Причем, по данным некоторых авторов (Moorhouse, 1969; Кемп е. а., 1982), ротовые части клещей рода *Haemaphysalis* располагаются наиболее поверхностно по сравнению с таковыми других иксодовых клещей и не проникают глубже верхней трети мальпигиева слоя эпидермиса. Настоящее исследование ставит своей целью электронно-микроскопическое изучение особенностей прикрепления *H. longicornis* и реакции хозяина на прикрепление клеща. Кроме того, предполагается сопоставить полученные результаты с данными предыдущих исследований, посвященных прикреплению других иксодовых клещей (Амосова, 1989а, 1989б, 1994), прежде всего короткохоботкового представителя амблиоммин *Dermacentor marginatus* (Амосова, 1989а). Сравнение полученных данных, по нашему мнению, облегчается тем, что как настоящее, так и проведенные ранее исследования выполнены на одном виде хозяина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для исследования были использованы личинки иксодового клеща *Haemaphysalis longicornis* из лабораторной культуры. Личинок кормили на ушных раковинах белых мышей. Для фиксации брали кусочки ткани (1 × 1 мм) вместе с прикрепившимся клещом. Материал фиксировали через 2 ч, 1–3 сут после прикрепления. Фиксацию и дальнейшую обработку материала проводили по методике, описанной ранее (Амосова, 1989б).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как показали наши электронно-микроскопические исследования, уже через 2 ч после прикрепления личинок *Haemaphysalis longicornis* их ротовые части окружены цементным футляром. Однако последний располагается только на поверхности эпидермиса, не проникая в ранку. В этот период он имеет неопределенную форму. Вещество футляра характеризуется умеренной электронной плотностью и включает многочисленные лежащие беспорядочно роговые чешуи эпидермиса хозяина (рис. 1, 1). Помимо этого, в веществе футляра имеются отдельные участки с пониженной электронной плотностью. Поверхность футляра, обращенная к ротовым частям клеща, повторяет форму последних. Ротовые части, как нам представляется, еще не полностью погружены в ткани хозяина, хотя на ряде электрограмм можно наблюдать контакт концевых отделов ротового аппарата с верхними слоями дермы (рис. 1, 2). Через 1 сут после начала питания и до его окончания концы ротовых частей всех исследованных личинок располагаются на границе эпидермиса и дермы или соприкасаются с дермой. Иными словами, начиная с этого момента они, по-видимому, погружены в ткани хозяина на характерную для клещей данного вида глубину. Цементный футляр к этому времени окружает ротовые части клеща, находящиеся в тканях, а часть его по-прежнему располагается на поверхности покровов. Это позволяет говорить о присутствии двух частей в пределах данного образования — околоротовой части футляра и цементного конуса. Как и на предыдущей стадии, „внутренняя” поверхность футляра зеркально повторяет форму поверхности ротовых частей. „Внешняя”, обращенная к тканям хозяина поверхность околоротовой части футляра контактирует с эпидермисом и соединительной тканью. Эта поверхность неровная и часто образует выросты, довольно глубоко проникающие в ткани хозяина. В периферической части цементного конуса вещество футляра располагается между слоями роговых чешуй и имеет на срезах вид длинных выростов (рис. 1, 3).

Ультраструктура цементного футляра претерпевает некоторые изменения в течение многодневного питания клеща. Через 1 сут после его прикрепления к хозяину при сохранении прежней умеренной электронной плотности вещества футляра в нем появляются более плотные тяжи, повторяющие форму „внутренней” или „внешней” поверхности футляра, причем различия в ультраструктуре конуса и околоротовой части отсутствуют. Такая структура цементного футляра сохраняется и через 2 сут после начала питания. Через 3 сут после прикрепления появляются различия в структуре цементного конуса и околоротовой части футляра. Вещество конуса становится более гомогенным и менее электроноплотным по сравнению с околоротовой частью. Электронная плотность последней соответствует электронной плотности тяжей, лежащих в цементном конусе. Кроме того, в этот период на „внешней” поверхности околоротовой части наблюдается проникновение „цемента” между пучками коллагеновых фибрилл и измененными клетками эпидермиса хозяина, причем дистальная часть ротового аппарата в это время обычно не проникает за пределы околоротовой части футляра.

Известно (Кетр е. а., 1982; Балашов, 1982), что в ответ на прикрепление иксодового клеща в тканях хозяина вокруг ротовых частей клеща образуется очаг воспаления, из которого и происходит питание клеща. Структура межклеточного вещества соединительной ткани хозяина и клеточный состав инфильтрата изменяются в течение многодневного питания. Как показывают наши исследования, первые лейкоциты обнаруживаются вблизи места прикрепления личинок *H. longicornis* уже через 2 ч после прикрепления к хозяину. Единственным обнаруженным в это время типом клеток были эозинофилы, которые имели ультраструктуру, типичную для клеток данного типа (Steeves, Allen, 1990). От других типов грануло-

цитов эозинофилы хорошо отличимы по наличию относительно крупных овальных цитоплазматических гранул, содержащих кристаллоподобные электронноплотные образования. Эозинофилы располагались как в непосредственной близости от ротовых частей, так и в более глубоких слоях дермы. Клетки этого типа довольно многочисленны, поскольку часто наблюдались по 2–3 в поле зрения (рис. 1, 2).

Через 1 сут после прикрепления преобладающим типом лейкоцитов в очаге воспаления становятся нейтрофилы. Однако они относительно немногочисленны, так как обычно встречаются по одному в поле зрения и никогда не образуют скоплений. Дегрануляция и распад нейтрофилов на этой стадии не наблюдались. В отличие от эозинофилов нейтрофилы содержат относительно мелкие круглые, овальные или палочковидные гранулы высокой электронной плотности. Помимо нейтрофилов в этот период вблизи места прикрепления клеща встречаются единичные эозинофилы и тучные клетки.

На следующей из исследованных нами стадий прикрепления личинок *H. longicornis* (2 сут после прикрепления) состав инфильтрата, по-видимому, не отличается от наблюдавшегося на предыдущем этапе. На заключительной стадии питания клеща (3 сут после прикрепления) в очаге воспаления наблюдаются значительные изменения. Обращает на себя внимание резкое увеличение количества нейтрофилов, о чем свидетельствует прежде всего присутствие многочисленных скоплений этих клеток вблизи места прикрепления. Скопления состоят из 10–12 и более клеток. Нейтрофилы в пределах скопления имеют обычную для гранулоцитов данного типа структуру (рис. 1, 4). Отдельные нейтрофилы встречаются в соединительной ткани крайне редко. Помимо нейтрофилов в очаге воспаления изредка наблюдались единичные эозинофилы (рис. 2, 1) и тучные клетки. Картин, указывающих на дегрануляцию клеток последних двух типов, отмечено не было.

В этот же период питания личинок *H. longicornis* в дерме непосредственно под ротовыми частями клеща располагается пищевая полость, которая представляет участок лизированной соединительной ткани хозяина. Из литературных данных известно (Tatchell, Moorhouse, 1970), что образование пищевой полости происходит под действием ферментов, освобождающихся при распаде нейтрофилов, входящих в состав инфильтрата. Как показали наши исследования тканей мышей вблизи места прикрепления личинок *H. longicornis*, одновременно с увеличением количества нейтрофилов через 3 сут после начала питания внутри и вокруг пищевой полости наблюдаются многочисленные распадающиеся нейтрофилы (рис. 2, 2, 3). В этот же период в пищевой полости можно видеть и неизменные нейтрофилы (рис. 2, 4). Кроме того, через 3 сут после прикрепления в пищевой полости появляются эритроциты (рис. 2, 4), что соответствует экспериментальным данным (Seifert e. a., 1968) о поступлении цельной крови в организм клеща только в последние сутки многодневного питания. Какие-либо другие клетки, кроме нейтрофилов, эозинофилов и эритроцитов, в пищевой полости отсутствуют.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как указывалось выше, данная работа продолжает серию электронно-микроскопических исследований, посвященных особенностям прикрепления иксодовых клещей к телу хозяина в период многодневного питания (Амосова, 1989а, 1989б, 1994). Во всех работах, включая настоящую, в качестве хозяина был использован один и тот же объект – белые мыши, что, как нам представляется, позволяет более четко выявить различия в реакции хозяина на прикрепление иксодид разных видов и особенности прикрепления последних. Ранее в этом отношении были исследованы два представителя посем. Amblyomminae (*Hyalomma asiaticum*,

Dermacentor marginatus) и один представитель подсем. Ixodinae (*Ixodes ricinus*), причем исследованные амблиоммины отличались по глубине проникновения ротовых частей в ткани хозяина (*H. asiaticum* – длиннохоботковый клещ; *D. marginatus* – короткохоботковый).

Haemaphysalis longicornis, как и многие другие представители этого рода амблиоммин, является короткохоботковым клещом, т. е. его ротовые части проникают в ткани хозяина относительно неглубоко. Считается (Moorhouse, 1969; Arthur, 1970; Kemp e. a., 1982), что эволюция прикрепления иксодовых клещей к телу хозяина шла по линии уменьшения разрушения тканей хозяина ротовыми частями клеща, иными словами, в направлении от более глубокого проникновения в них к менее глубокому. По представлениям перечисленных авторов, наиболее поверхностно располагаются ротовые части клещей рода *Haemaphysalis*. В литературе присутствуют и другие данные (Chinery, 1973), согласно которым ротовые части клещей рода *Haemaphysalis* проникают в верхние слои дермы. Это обстоятельство и побудило нас исследовать прикрепление к хозяину одного из видов данного рода.

Как показали наши электронно-микроскопические исследования, ротовые части личинок *H. longicornis* погружаются в ткани хозяина на характерную для этого вида и рода глубину к концу первых суток питания и достигают границы эпидермиса и дермы, а в некоторых случаях контактируют с дермой. Возможно, глубина погружения ротовых частей варьирует в зависимости от угла, под которым они проникают в кожу. Такое же положение ротовых частей отмечалось и при питании исследованного нами короткохоботкового клеща – *D. marginatus* (Амосова, 1989б). Строение цементного футляра этих двух видов клещей также оказалось сходным. В обоих случаях в пределах этого образования можно выделить околоротовую часть и цементный конус, отличающиеся как по расположению в тканях хозяина, так и по ультраструктуре. Следует отметить, что ультраструктурные различия между частями цементного футляра наблюдались и у других изученных нами иксодид – длиннохоботкового представителя амблиоммин *Hyalomma asiaticum* (Амосова, 1989б) и представителя иксодин *Ixodes ricinus* (Амосова, 1994). Ранее нами высказывалось предположение о том, что эти структурные различия отражают биохимические особенности частей цементного футляра (Амосова, 1994), выявленные гистохимически (Chinery, 1973; Walker, Fletcher, 1986).

Взаимодействие цементного футляра личинок *H. longicornis* с тканями хозяина оказалось в значительной мере сходным с наблюдавшимся при питании другого короткохоботкового клеща *D. marginatus* (Амосова, 1989а). В обоих случаях наблюдалось включение роговых чешуй в состав цементного конуса, что, как предполагается (Амосова, 1989б), обеспечивает более прочное соединение конуса с тканями хозяина по сравнению с таковым у длиннохоботковых клещей. Это обеспечивается также и более глубоким проникновением материала цементного конуса между неороговевшей и ороговевшей частями эпидермиса у исследованных нами короткохоботковых клещей. Околоротовая часть цементного футляра *H. longicornis* и *D. marginatus* взаимодействует с эпидермисом хозяина. В этой области наблюдается проникновение „языков” цемента между видоизмененными клетками. В литературе высказывалось предположение (Chinery, 1973), что соединение цемента с тканями хозяина происходит благодаря растеканию в первые часы питания не затвердевшей еще слюны по линии наименьшего сопротивления между ороговевшей и неороговевшей частями эпидермиса (цементный конус) и клетками эпидермиса (околоротовая часть футляра). „Заякоривание” клеща в цементном футляре обуславливается тем, что поверхность футляра, обращенная к ротовым частям, зеркально повторяет их форму. Описанное закрепление в тканях хозяина,

с одной стороны, и прочная фиксация ротовых частей клеща внутри футляра — с другой, обеспечивают прочное прикрепление клеща к хозяину в течение всего периода многодневного питания, что особенно важно для короткохоботковых иксодид, ротовые части которых не проникают в глубокие слои кожи.

В собственно коже под ротовыми частями иксодовых клещей образуется очаг воспаления в виде клеточного инфильтрата, содержимым которого и питается клещ. Характер изменений в клеточном составе инфильтрата в месте прикрепления личинок *H. longicornis* в основном сходен с наблюдавшимся при питании других изученных нами клещей (Амосова, 1989а, 1989б, 1994), хотя полученные данные позволяют отметить ряд особенностей, характерных для данного вида. Обращает на себя внимание присутствие вблизи места прикрепления эозинофилов на ранних этапах питания (2 ч после прикрепления), причем в данном случае часто удается наблюдать по 2–3 клетки в поле зрения, что позволяет говорить об их относительной многочисленности. Присутствие эозинофилов в составе инфильтрата в столь ранние сроки было отмечено нами ранее только в месте прикрепления *Hyalomma asiaticum* (Амосова, 1989б), где лейкоциты этого типа в течение всего периода питания более многочисленны, чем в других исследованных нами случаях. Интересно отметить, что как при прикреплении *H. longicornis*, так и *Hyalomma asiaticum* на ряде электронограмм наблюдалось проникновение незащищенных цементным футляром концов ротовых частей в ткани хозяина. Возможно, с этим связано присутствие эозинофилов в очаге воспаления, поскольку известно, что одной из функций лейкоцитов этого типа является антипаразитарная реакция (Gleich, 1977). Однако в месте прикрепления *Ixodes ricinus* (Амосова, 1994), у которого цементный футляр располагается на поверхности эпидермиса и ротовые части не окружены цементом, количество эозинофилов в очаге воспаления сравнительно невелико. Это позволяет предположить, что различия в интенсивности местной эозинофильной реакции, скорей всего, связаны с видовыми особенностями паразита, например с составом слюны клеща.

Динамика нейтрофилов в месте прикрепления личинок *H. longicornis* в общих чертах повторяет наблюдавшуюся при питании исследованных ранее клещей (Амосова, 1989а, 1989б, 1994). Лейкоциты этого типа преобладают в составе инфильтрата в течение всего периода прикрепления, за исключением самого начала (2 ч после прикрепления). Как и в предыдущих исследованиях, отмечено резкое увеличение количества нейтрофилов к концу питания (3 сут после прикрепления). В этот период наблюдается распад нейтрофилов, результатом которого является лизис соединительной ткани и образование пищевой полости. Как и в инфильтратах, в месте прикрепления исследованных ранее иксодид (Амосова, 1989а, 1989б, 1994) вблизи ротовых частей *H. longicornis* не были обнаружены базофилы. Это, вероятно, связано с тем, что выраженная местная базофильная реакция характерна только для sensibilizированных хозяев, т. е. проявляется только при повторном питании клещей на одной особи хозяина (Steeves, Allen, 1990).

На заключительных этапах питания личинок *H. longicornis* в пищевой полости часто встречаются эритроциты. Появление этих клеток в последние сутки питания отмечалось нами и под ротовыми частями других иксодид, за исключением *Ixodes ricinus*, при питании которого эритроциты наблюдались в середине периода питания (2 сут после прикрепления) (Амосова, 1994). Эти различия в сроках появления эритроцитов, вероятно, связаны с глубиной проникновения ротовых частей клеща в ткани хозяина и соответственно со степенью их разрушения. Таким же образом, по-видимому, можно объяснить и наличие фибробластов в пищевой полости. В этой связи следует указать на отсутствие фибробластов в пищевой полости при питании *H. longicornis* и другого короткохоботкового клеща *D. marginatus*. В то время как в пищевой полости длиннохоботкового клеща *Hyalomma*

asiaticum и представителя иксодид *Ixodes ricinus* через 3 и 2 сут соответственно обычно содержатся фибробласты, ультраструктура которых указывает на интенсивные синтетические процессы (Амосова, 1989б, 1994). Фибробласты были обнаружены и в пищевой полости клеща *Hyalomma anatolicum* при питании на кроликах (Gill, Walker, 1985). Указанные факты, по-видимому, подтверждают наше предположение (Амосова, 1989б) о начале восстановительных процессов, происходящих в тканях хозяина в ответ на значительные повреждения тканей при питании иксодовых клещей, ротовые части которых глубоко проникают в дерму.

Таким образом, в результате электронно-микроскопического исследования гистопатологических изменений в месте прикрепления личинок короткохоботкового клеща *Haemaphysalis longicornis* к телу белых мышей выявлено:

1. Значительное сходство в ультраструктуре цементного футляра вокруг ротовых частей исследуемого клеща с соответствующим образованием других исследованных нами представителей подсем. Amblyommini (Амосова, 1989а, 1989б), а также сходство в особенностях соединения цементного футляра с тканями хозяина у *H. longicornis* и другого короткохоботкового клеща *Dermacentor marginatus*.

2. Показано, что концы ротовых частей и окружающий их цементный футляр достигают границы эпидермиса и дермы и соприкасаются с последней, что согласуется с данными светооптических исследований Чайнери (Chinery, 1973) и не подтверждает распространенное в литературе мнение о поверхностном расположении ротовых частей в эпидермисе хозяина при питании клещей рода *Haemaphysalis* (Moorhouse, 1969; Kemp e. a., 1982).

3. Клеточный состав инфильтрата в общих чертах аналогичен описанному нами при питании других иксодид на том же хозяине (Амосова, 1989а, 1989б, 1994). В том числе отмечено:

- а) усиление местной нейтрофилии в конце питания, совпадающее с образованием пищевой полости;
- б) присутствие эритроцитов в пищевой полости в последние сутки питания;
- в) раннее (2 ч после прикрепления) появление эозинофилов вблизи ротовых частей;
- г) отсутствие фибробластов в пищевой полости на заключительных этапах питания.

Список литературы

- Амосова Л. И. Ультраструктурные особенности гистопатологических изменений в месте прикрепления личинок иксодового клеща *Dermacentor marginatus* к телу хозяина // Паразитол. сб. 1989а. Т. 35. С. 30–36.
- Амосова Л. И. Ультраструктурные особенности гистопатологических изменений в месте прикрепления к телу хозяина личинок иксодового клеща *Hyalomma asiaticum* // Паразитология. 1989б. Т. 23, вып. 4. С. 320–327.
- Амосова Л. И. Ультраструктурные особенности гистопатологических изменений в месте прикрепления к телу хозяина личинок иксодового клеща *Ixodes ricinus* // Паразитология. 1994. Т. 28, вып. 5. С. 356–363.
- Балашов Ю. С. Паразито-хозяинные отношения членистоногих с наземными позвоночными. Л., 1982. 319 с.
- Arthur D. R. Tick feeding and its implications // Advances in Parasitology. L.; N. Y., 1970. Vol. 8. P. 275–292.
- Chinery W. A. The nature of „cement” substance at the site of attachment and feeding of adult *Haemaphysalis spinigera* (Ixodidae) // J. Med. Entomol. 1973. Vol. 10, N 4. P. 355–362.

- Gill H. S., Walker A. S. Differential cellular responses at *Hyalomma anatolicum anatolicum* feeding sites on susceptible and tick-resistant rabbits // *Parasitology*. 1985. Vol. 91, pt 3. P. 591–607.
- Gleich G. J. The eosinophil: structure and biochemical composition // *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1977. Vol. 26, N 6. P. 126–133.
- Kemp D. H., Stone B. E., Binnington K. C. Tick attachment and feeding: role of mouthparts, feeding apparatus, salivary glands secretion and host resistance // *Physiology of ticks*. Oxford etc., 1982. P. 119–168.
- Moorhouse D. E. The attachment of some Ixodid ticks to their natural hosts // *Proc. II Congr. acarol.* Budapest, 1969. P. 319–327.
- Seifert G. W., Springell P. H., Tatchell R. J. Radioactive studies on the feeding of larvae, nymphs and adults of cattle ticks, *Boophilus microplus* (Canestrini) // *Parasitology*. 1968. Vol. 58, pt. 3. P. 415–430.
- Steeves E. B. T., Allen J. R. Basophils in skin reactions of mast cell–deficient mice infested with *Dermacentor variabilis* // *Int. J. Parasitol.* 1990. Vol. 20, N 5. P. 655–667.
- Tatchell R. J., Moorhouse D. E. Neutrophils: their role in the formation of a tick feeding lesion // *Science*. 1970. Vol. 167. P. 1002–1003.
- Walker A. R., Fletcher J. D. Histological study of attachment sites of adult *Rhipicephalus appendiculatus* on rabbit and cattle // *Int. J. Parasitol.* 1986. Vol. 16, N 4. P. 399–433.

ЗИН РАН Санкт-Петербург, 199034

Поступила 20.04.1997

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF HISTOPATHOLOGICAL CHANGES AT THE ATTACHMENT SITE OF IXODID TICK *HAEMAPHYSALIS LONGICORNIS*

L. I. Amosova

Key words: Ixodidae, *Haemaphysalis longicornis*, mouse, attachment site, cement substance, neutrophil, eosinophil.

SUMMARY

This article continues the series of electronic microscopical investigations of tick attachment and host's inflammatory reaction in the attachment site. In all this works we used larvae of different Ixodid ticks but the same species of the host (white mouse), Ixodid species having different type of attachment. *Dermacentor marginatus* (Amosova, 1989a) is characterized by the superficial penetration of mouthparts, the abundance of cement around them and on the surface of the host's skin, the mouthparts of *Hyalomma asiaticum* are fully inserted and the superficial cement is minimal (Amosova, 1989b) and *Ixodes ricinus* has mouthparts inserted more deeply in the skin tissue of the host and the cement substance localised only on the surface of the skin at the 1st and 2nd days of feeding period. For this investigation we choose *Haemaphysalis longicornis* because it is known (see Kemp et al., 1982) that genus *Haemaphysalis* has the most superficial localisation of the mouthparts in the attachment site. We have studied a fine structure of cement cone and the cement substance surrounding the mouthparts in the skin and have demonstrated that it is very similar to the *Dermacentor marginatus* cement structure. The pattern of cellular response is similar to *D. marginatus* lesion too.

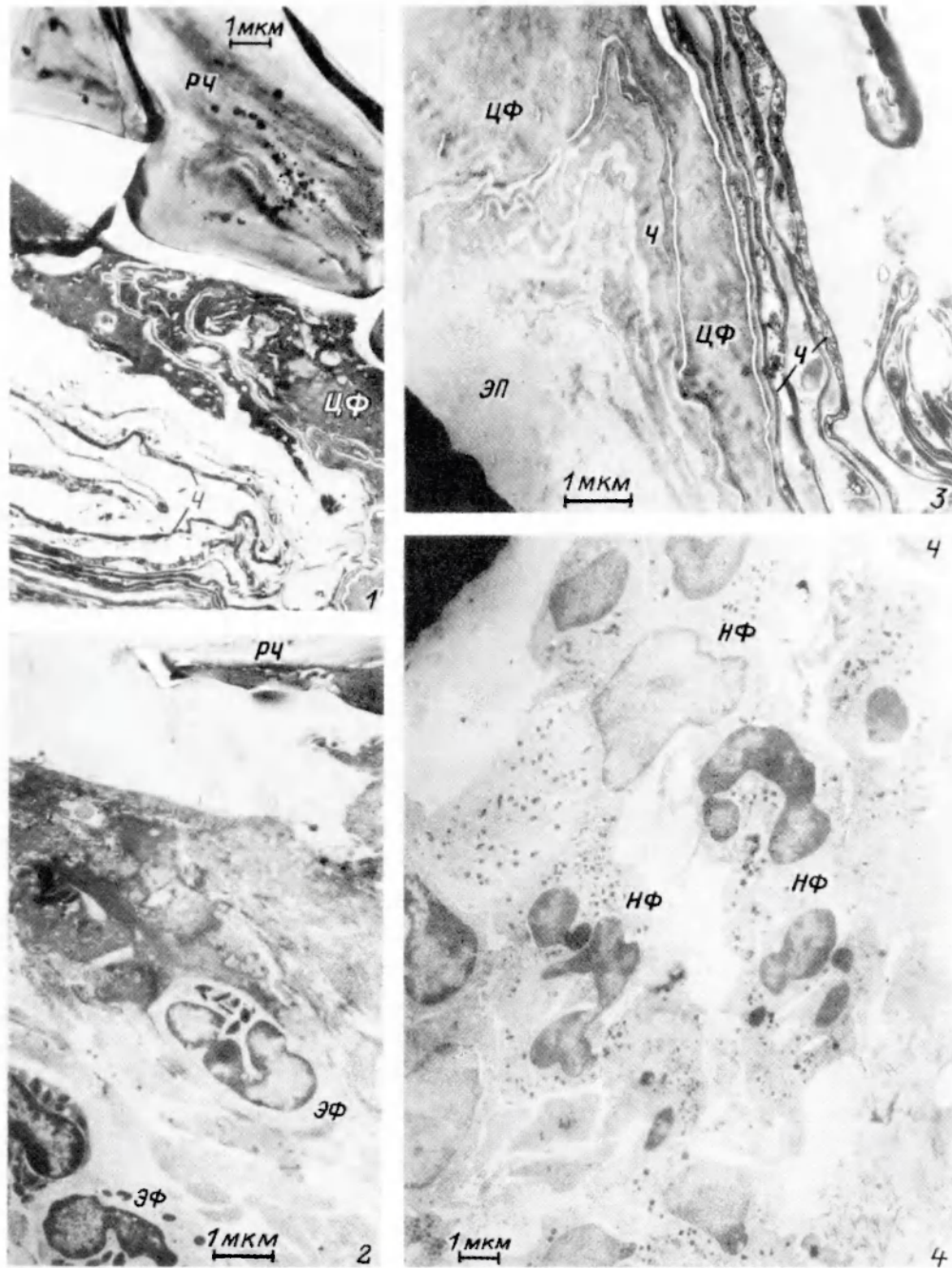


Рис. 1. Место прикрепления личинки иксодового клеща.

1 — цементный футляр через 2 ч после прикрепления клеща; 2 — ротовые части клеща в тканях хозяина (2 ч после прикрепления); 3 — периферическая часть цементного конуса; 4 — скопление нейтрофилов в тканях хозяина через 3 сут после прикрепления; НФ — нейтрофил; РЧ — ротовые части клеща; ЦФ — цементный футляр; Ч — роговые чешуи эпидермиса; ЭП — клетки эпидермиса; ЭФ — эозинофил.

Fig. 1. The attachment site of ixodid tick.

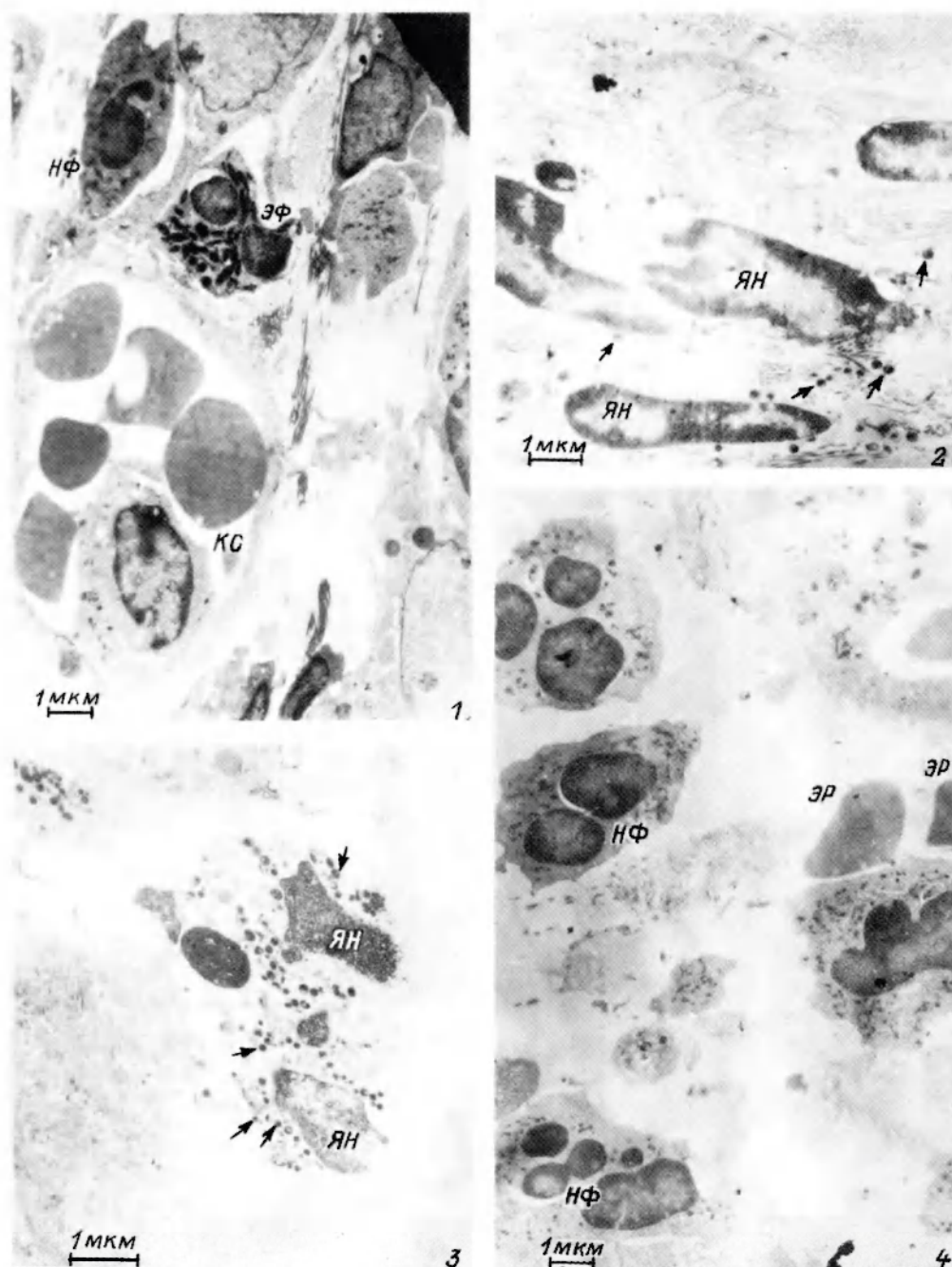


Рис. 2. Место прикрепления личинки иксодового клеща через 3 сут после прикрепления.

1 — лейкоциты в соединительной ткани хозяина; 2 — распад нейтрофилов в соединительной ткани хозяина; 3 — распад нейтрофилов в пищевой полости; 4 — содержимое пищевой полости; КС — кровеносный сосуд; НФ — нейтрофил; ЭР — эритроцит; ЭФ — эозинофил; ЯН — ядро нейтрофила; стрелки — гранулы распавшихся нейтрофилов.

Fig. 2. The attachment site of ixodid tick after 3 days of the feeding.